

UEBER EINEN PEPTIDARTIGEN BAKTERIENWUCHSSTOFF

Verkürzte Fassung der
INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde,
vorgelegt der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von
ROLF STUDER
aus Dornach (Sol.)

Basel 1955

Basel
P. Wenger
1961

UEBER EINEN PEPTIDARTIGEN BAKTERIENWUCHSSTOFF

Verkürzte Fassung der
INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde,
vorgelegt der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von
ROLF STUDER
aus Dornach (Sol.)

Basel 1955

Basel
P. Wenger
1961

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen
Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. M. Brenner
und Dr. T. Reichstein.

Basel, den 23. Februar 1955.

Prof. Dr. L. Vonderschmitt,
Dekan.

Herrn Rolf Studer wurde von der Philosophisch-Natur-
wissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am
23. Februar 1955 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner
am 23. Februar 1955 genehmigten Inauguraldissertation
drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

"Ueber einen peptidartigen Bakterienwuchsstoff"

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im org.-chem. Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.



I. EINLEITUNG

In der Literatur sind bis heute eine Reihe von reinen Peptiden beschrieben, welche auf ihre Wirkung als Wachstumsstoffe für Bakterien untersucht worden sind. Einige dieser Peptide zeigen gegenüber einem Gemisch ihrer konstituierenden Aminosäuren eine erhöhte Wirkung auf den Bakterienwachstum. Hierher gehört das Strepogenin (1,2), welches aus verschiedenen Proteinen durch partielle Hydrolyse mit Säuren (3,4,) oder durch enzymatischen Abbau mit Trypsin (4,5,6) erhalten werden kann. Es handelt sich dabei um eine Reihe von Peptiden (3, 7-10), welche eine wachstumsfördernde Wirkung auf eine Anzahl von Mikroorganismen (4, 11-17) ausüben. Eine analoge Wirkung wurde auch für einige höhere Lebewesen, besonders für Ratten und Mäuse (17-22) festgestellt, obwohl in dieser Beziehung auch gegenteilige Beobachtungen gemacht wurden (23-27). Auch das Glutathion wurde schon verschiedentlich als Wachstumsfaktor genannt (8, 28-31).

Es wurde vermutet, dass solchen Peptiden eine spezielle Rolle im Metabolismus zukommt. Gegen eine solche Interpretation spricht aber die Tatsache, dass keine strukturelle Verwandtschaft zwischen diesen Peptiden besteht. Wahrscheinlich werden die von den Organismen aufgenommenen Peptide hydrolysiert (32-36) und in Form ihrer Aminosäuren verwendet. Für ihre erhöhte Wirksamkeit im Bakterienwachstum konnte an Hand von Experimenten mit synthetischen Peptiden eine Reihe von Erklärungen gefunden werden. Diese umfassen die Anwesenheit einer antagonistischen Aminosäure (34,37,38), die Zerstörung der Aminosäure in einer Nebenreaktion vor ihrer Verwendung zur Proteinsynthese (35,39,40), oder das Unvermögen, eine Aminosäure aus dem Nährmilieu zu absorbieren (36). In diesen Fällen verarmt der Organismus an bestimmten essentiellen Aminosäuren und wird deshalb in seiner Entwicklung verlangsamt. Unter allen diesen Bedingungen zeigten Peptide, welche die betreffenden Aminosäuren als Bestandteile enthielten, eine wachstumsfördernde Wirkung.

II. PROBLEMSTELLUNG

Im Zusammenhang mit anderen Arbeiten wurde in unserem Laboratorium beobachtet, dass das Pankreas-Enzym Novo der Firma Terapeutisk Laboratorium in Kopenhagen für *L. Helveticus* wachstumsfördernd wirkt. Dieses Ferment besteht im Wesentlichen aus Trypsin und Chymotrypsin, verunreinigt mit anorganischen Salzen.

Wir versuchten in der Folge, diese Wuchsstoffwirkung zu charakterisieren, sowie das aktive Prinzip anzureichern, zu isolieren und in seiner Struktur aufzuklären. Diese Versuche sind im nachfolgenden experimentellen Teil beschrieben.

III. EXPERIMENTELLER TEIL

1. Die mikrobiologischen Testmethoden

Wir verwendeten im Verlaufe unserer Untersuchungen zwei verschiedene mikrobiologische Tests. Der eine, mit *Lactobacillus helveticus* G, gab uns die Möglichkeit, unseren Bakterienwuchsstoff auf seine Ähnlichkeit mit schon bekannten Wuchsstoffen zu untersuchen und ein Standardpräparat zu entwickeln, der andere, mit *Clostridium welchii* erwies sich als ein Test, welcher mit den Hilfsmitteln eines chemischen Laboratoriums durchgeführt werden kann.

a) Testmethode mit *L. helveticus* G (41)

Mit diesem Organismus wurde das Wachstum mit Hilfe von viermaliger Trübungsmessung zwischen 20 und 70 Stunden verfolgt. Aus der graphischen Darstellung, in welcher die erhaltene Trübung gegen die Konzentration aufgetragen wurde, konnte der Halbwert des optimalen Wachstums festgestellt und daraus die Aktivität des Präparates abgeschätzt werden.

Zur Prüfung von aktiven Zonen auf Papierchromatogrammen und Papierelektrophoresen konnte dieser Testorganismus auch in Agarplatten verwendet werden. Nach dem Auflegen der Streifen entwickelten sich an den aktiven Stellen helle Wachstumszonen.

b) Testmethode mit Clostridium welchii SR 12 (42)

Da dieser Organismus die Glukose fermentativ abbaut und dabei Wasserstoff und Kohlendioxyd proportional zum Bakterienwachstum entwickelt, wurde zur Verfolgung des Wachstums die manometrische Warburgmethode verwendet. Zur Bestimmung der Aktivität auf Papierchromatogrammen und Papierelektrophoresestreifen wurden die mit Hilfe von Leitstreifen erhaltenen Zonen in kleine Schnitzel geschnitten und direkt in das Warburggefäß gegeben.

2. Herstellung eines Standardpräparates und mikrobiologische Charakterisierung

Das käufliche Pankreas-Enzym Novo der Firma Teraapeutisk Laboratorium Kopenhagen erwies sich unter verschiedenen ähnlichen Produkten als das günstigste Ausgangsmaterial.

10 gr Ferment wurden in 100 ccm destilliertem Wasser aufgeschlämmt und in einem Cellophanschlauch gegen zwei Liter destilliertes Wasser dialysiert. Dieses wurde viermal nach je 3 Stunden ersetzt, ein fünftes Mal nach 12 Stunden, worauf die Dialyse unterbrochen wurde. Die vereinigten Dialysatfraktionen wurden im Vacuum bei 40° eingedampft und der gelbliche Rückstand als Dialysat bezeichnet. Der Membranhalt wurde abfiltriert, das klare Filtrat lyophilisiert und als Filtrat bezeichnet. Der nach der Filtration verbliebene Rückstand wurde im Exsiccator getrocknet. Die Fraktionierung geht aus der Tabelle 1 hervor.

Tabelle 1: Fraktionierung von 100 Teilen Pankreas-Enzym Novo und relative biologische Aktivität der Fraktionen gegen L.helv.G.

Fraktion	Trocken-Rückstand	Aktivität pro mg	Totale Aktivität
Dialysat	72 Teile	0,1	7,2
Filtrat	18 Teile	1,0	18
Rückstand	8 Teile	inaktiv	0

Das lyophilisierte Filtrat verwendeten wir als erste Testsubstanz unter der Bezeichnung Filtrat-Standard. Seine Aktivität war reproduzierbar und wurde willkürlich gleich 1 gesetzt. Bei der mikrobiologischen Untersuchung ergab sich, dass die Aktivität des Filtrat-Standards gegenüber Milchsäurebakterien aus einer wachstumsbeschleunigenden Wirkung und aus einer dauernden Erhöhung der Zell- resp. Milchsäureproduktion zusammengesetzt ist. Die Wachstumsbeschleunigung wurde bei Stämmen der Gruppen L.helveticus, L.casei und L.bulgaricus erzielt. Negativ verliefen die Untersuchungen bei Stämmen der Enterokokken-gruppe, sowie bei L.leichmanii und Leuconostoc mesenteroides. Dauernde Erhöhung der Zell- resp. Milchsäureproduktion dagegen zeigten alle Stämme. Das halboptimale Wachstum wurde jeweils bei einer Konzentration von ca. 15 γ pro ccm erreicht. Die Versuche mit unseren Testorganismen wiesen auf eine sehr grosse Ähnlichkeit unserer Aktivität mit dem Strepogenin hin.

3. Abtrennung von hochmolekularen Stoffen und Herstellung eines Präparates für chemische Untersuchungen

a) Herstellung des Ausgangspräparates

Die im Filtrat-Standard noch vorhandenen hochmolekularen Eiweisstoffe erwiesen sich für eine Isolierung der Aktivität als störend. Durch deren Denaturierung in der Wärme konnte die Aktivität am besten abgetrennt werden. Wir stellten deshalb eine Ausgangssubstanz für unsere weiteren chemischen Untersuchungen auf folgende Weise her.

40 gr Ferment wurden in 100 ccm destilliertem Wasser aufgeschlämmt und unter häufigem Wasserwechsel während 5 Tagen gegen destilliertes Wasser dialysiert. Darauf wurde der Membranzinhalt während 10 Minuten bei 90° denaturiert und in einer neuen Membran erneut gegen destilliertes Wasser dialysiert. Die einzelnen Dialysefraktionen, welche ca. 80 ccm Volumen besaßen, wurden alle 24 Stunden gewechselt. Nach dem 5. Fraktionenwechsel brachen wir die Dialyse ab und lyophilisierten die vereinigten Dialysate. Auf diese Weise erhielten wir ein lockeres, weisses Pulver mit einer stets reproduzierbaren Aktivität von 1 bezogen auf das ursprüngliche Standardpräparat. Die mikrobiologischen Eigenschaften wurden durch diesen Prozess nicht verändert.

b) Papierchromatographie

Sowohl in Collidin-Wasser als auch in Butanol-Eisessig konnte durch Papierchromatographie auf Whatman No. 1 keine eindeutige Auftrennung erhalten werden. Die Aktivität war über alle Zonen verschmiert.

c) Papierelektrophorese

Papierelektrophoresen, welche auf Whatman No. 1 in einem modifizierten Elphor-Gerät (44) bei verschiedenem pH und einer Spannung von 6 V/cm durchgeführt wurden,

ergaben eine Auftrennung in 4 verschiedene Zonen, von denen nur eine aktiv war (Tabelle 2).

Tabelle 2: Resultat der Papierelektrophoresen

pH	Wanderung der einzelnen Zonen in cm				Stelle der Aktivität
	1	2	3	4	
10,0	+3,5	+8,0	+11,5	+15,0	+7 bis +15, Sp.*) +1
8,5	+1,5	+5,0	+ 8,5	+12,5	+8,5
6,85	-2,7	0	+ 4,0	+12,2	+1 bis +8, Sp. +4,5
6,05	-4,2	-6,0	-10,0	-13	-4,7
5,25	-4,2	-7,6	-11,0	-14	-7,5
4,5	-7,0	-9,0	-10,5	-13,5	-8,5
1,5	nur noch 1 Zone bei -9,5				-9,5

*) Sp.: Schwerpunkt. + Wanderung gegen die Anode
- Wanderung gegen die Kathode

Mit Hilfe der Papierelektrophorese lässt sich somit die Substanz in vier Zonen aufteilen, von denen eine die Aktivität enthält, während die andern inaktiv sind.

d) Elektrophorese nach Tiselius (45)

Zur quantitativen Abschätzung der Komponenten führten wir eine Elektrophorese im Apparat nach Tiselius aus. Die Aufnahme erfolgte in einem etwas modifizierten Michaelis-puffer pH 8,9 und einer Ionenstärke von 0,1. Die Versuchstemperatur betrug + 2° und die Versuchsdauer 2200 Sekunden bei einer Stromstärke von 25 mA. Die Resultate sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Auswertung der Elektrophorese

Komponente	Relative Menge		Mittel
	rising bd.	descending bd.	
1	3,3	1,9	2,6
2	2,9	3,6	3,25
3	7,3	11,0	9,15
4	17,2	19,7	18,45
5	69,3	63,8	66,55

Die Substanz besteht somit aus 5 elektrophoretisch trennbaren Komponenten. Vergleicht man diese Resultate mit denjenigen aus der Papierelektrophorese, so stimmt mit grosser Wahrscheinlichkeit die Komponente 3, ev. die Komponente 2 mit der Aktivität überein. Sofern diese Elektrophoresezonen reine Substanzen darstellen, dürfte also die Aktivität zwischen 3% und 9% im Ausgangsmaterial vorhanden sein.

e) Umsetzung mit chemischen Reagenzien

Die Einwirkung von 2N Natronlauge bei Zimmertemperatur führte schon nach 15 Minuten zum vollständigen Verlust der Aktivität. Mit 1N Salzsäure trat ebenfalls Inaktivierung auf, allerdings etwas langsamer als durch Alkali. In beiden Fällen jedoch ging mit der Zerstörung der Aktivität ein Auftreten von Aminosäuren einher, was auf die peptidartige Natur des Wuchsstoffes hinweist. Durch Acetylierung und durch Einwirkung von salpetriger Säure wurde die Substanz zu 80% inaktiviert. Daraus ergibt sich, dass die Aktivität wenigstens teilweise an die Existenz einer freien Aminogruppe gebunden ist.

f) Gegenstromverteilung

Bei Versuchen, eine weitere Reinigung der Substanz durch Gegenstromverteilung zu erreichen, beobachteten wir in allen Alkohol enthaltenden Systemen eine Inaktivierung. Eine genauere Untersuchung der Beständigkeit der Aktivität in verschiedenen Alkoholen zeigte eine eindeutige Aktivitätsabnahme. Wir untersuchten in diesem Zusammenhang auch nochmals die Beständigkeit in Wasser. Blosses Stehenlassen einer wässrigen Lösung bei Zimmertemperatur führte zu keinen nennenswerten Aktivitätsverlusten. Wurden dagegen die wässrigen Lösungen erhitzt, so ergaben sich die folgenden Aktivitätsverluste (Tabelle 4).

Tabelle 4: Aktivitätsverluste beim Erhitzen auf 100°

Dauer des Versuchs in Stunden	Aktivität	Verlust in %
0	0,9	
24	0,5	44
48	0,2	77
120	0,15	83

Daraus ergibt sich, dass auch nach sehr langem Erhitzen ein Teil der Aktivität erhalten bleibt. Wir untersuchten nun die nach verschiedenen Zeiten anfallenden Fraktionen auf ihre Beständigkeit gegenüber Alkoholen. Dabei ergab sich die interessante Tatsache, dass alle diese Fraktionen gegenüber Alkoholen beständig sind. Wie Papierchromatogramme zeigten, entstanden durch diese Behandlung eine Reihe von Aminosäuren, welche durch Chromatographie an Amberlit IR 120 und an Amberlit IR IV B von den noch vorhandenen Peptiden abgetrennt werden konnten. Zur weiteren Untersuchung unserer Aktivität gingen wir deshalb in der Folge von diesem neuen Präparat aus.

4. Herstellung und Untersuchung der beständigen Fraktion

a) Herstellung

1 gr des Ausgangspräparates (siehe unter 3 a) wurden in 50 ccm Wasser gelöst und in einem Bombenrohr 24 Stunden auf 140° erhitzt. Die gelbliche Lösung wurde an einer Säule, welche 10 gr Amberlit IR 120 und 5 gr Amberlit IR IV B enthielt, chromatographiert. Nach dem Lyophilisieren des Eluates erhielten wir im Durchschnitt 250 mg eines schwach gelblichen Produktes mit einer Aktivität von 0,55 pro mg.

b) Papierelektrophorese

Papierelektrophoreseversuche in Veronal-Natriumacetatpuffer pH 5,1 ergaben eine Auftrennung in 4 Zonen, von denen nun zwei aktiv waren (Tabelle 5).

Tabelle 5: Wanderung der Elektrophoresezonen in Veronal-Natriumacetat-Puffer pH 5,1

Zone	Wanderung in cm	Aktivität
1	-5	-
2	-2,5	-
3	-0,3	0,4
4	+2	0,36

Diese Spaltung der ursprünglich auf eine Zone beschränkten Aktivität kann darauf beruhen, dass das aktive Prinzip beim Erhitzen in verschiedene Fragmente zerfällt, welche alle eine aktive Peptidkonfiguration besitzen. Dieses aktive Grundpeptid wird durch eine Verlängerung der Peptidkette in seiner Aktivität wenig beeinflusst. Die Verlängerung macht sich nur in den physikalisch-chemischen Eigenschaften bemerkbar.

c) Papierchromatographie

Papierchromatogramme nach der Rundfiltertechnik zeigten in Collidin-Wasser eine sehr schöne Auftrennung in 4 scharf getrennte Ringe.

d) Verteilungschromatographie an Cellulosepulver

100 mg Substanz wurden in 2 ccm wassergesättigtem Collidin gelöst und vorsichtig auf eine Säule (2,8 x 60 cm) von Cellulosepulver Solca Floc (46), welche vorher mit wassergesättigtem Collidin behandelt worden war, gegeben. Die Säule wurde auf eine Durchflussmenge von ca. 4 ccm pro Stunde eingestellt und die austretende Flüssigkeit in Fraktionen von 100 Tropfen mit einem Fraktionensammler aufgefangen. Auf diese Weise liess sich eine Auftrennung in zwei Buckel erhalten, von denen der erste die Aktivität enthielt. Ein Teil der Fraktionen des ersten Buckels erwiesen sich papierchromatographisch und elektrophoretisch als ziemlich einheitliche Substanzen.

e) Gegenstromverteilung der reinen Chromatographiefraktionen

Durch 20 stufige Gegenstromverteilung der fast reinen Fraktionen aus der unter d) beschriebenen Verteilungschromatographie im System n-Butanol-Wasser-Aethanol (5:5:1) konnten letzte Verunreinigungen abgetrennt werden. Es konnte ein Produkt isoliert werden, welches in Papierchromatogrammen in Collidin als einzelner Fleck mit einem R_F -Wert von 0,7 wanderte. Mit der Papierelektrophorese erhielten wir sowohl bei pH 5 als auch bei pH 8,5 nur noch eine einzelne Zone. Bezogen auf das Präparat 4 a weist diese Substanz ca. die doppelte Aktivität auf.

f) Totalhydrolyse und Aminosäurebestimmung
der reinen Substanz

Durch Hydrolyse der reinen Fraktion aus der Gegenstromverteilung mit 6N Salzsäure über Nacht und anschließende zweidimensionale Papierchromatographie in Collidin und Phenol konnten die folgenden Aminosäuren nachgewiesen werden: Glutaminsäure, Serin, Glycin, Asparaginsäure, Alanin, Valin, Leucin, Prolin, Phenylalanin, Tyrosin und ev. Taurin.

Es zeigte sich daraus, dass für die Wuchsstoffaktivität ein noch relativ grosses Peptid verantwortlich ist.

5. Zusammenfassung

Die Aktivität unseres Wuchsstoffes setzt sich zusammen aus einer wachstumsbeschleunigenden Wirkung und einer Wirkung, welche eine absolute Erhöhung der Zell- resp. Milchsäureproduktion zur Folge hat. Die Wachstumsbeschleunigung wurde bei Stämmen der Gruppe *L.helveticus*, *L.casei* und *L.bulgaricus* beobachtet. Negativ verliefen die Versuche bei Stämmen der Enterokokkengruppe, sowie bei *L.leichmanii* und *Leuconostoc mesenteroides*. Eine absolute Erhöhung der Zell- resp. Milchsäureproduktion wurde dagegen bei allen erwähnten Stämmen erzielt. Die Aktivität weist eine starke Aehnlichkeit mit dem Strepogenin auf.

Mit Hilfe von Denaturierung, Dialyse, Chromatographie und Gegenstromverteilung gelang es, eine einheitliche Fraktion zu isolieren, welche sich auf Grund der Aminosäurezusammensetzung als ein noch relativ grosses Peptid erwies.

6. LITERATUR

- 1) Woolley, D.W., J.Exp.Med. 73, 487 (1941)
- 2) Sprince, H., Woolley, D.W., J.Exp.Med. 80, 213 (1944)
- 3) Koditschek, E., Mistry, S.P., Bioch.J. 51, 108 (1952)
- 4) Karrer, W., Pfaltz, H., Helv.Chim.Acta 34, 2225 (1951)
- 5) Sprince, H., Woolley, D.W., J.Am.Chem.Soc. 67, 1734 (1945)
- 6) Wright, L.D., Skeggs, H.R., J.Bact. 48, 117 (1944)
- 7) Woolley, D.W., J.Biol.Chem., 171, 443 (1947)
- 8) Woolley, D.W., J.Biol.Chem. 172, 71 (1948)
- 9) Woolley, D.W., J.Biol.Chem. 179, 593 (1949)
- 10) Woolley, D.W., J.Am.Chem.Soc. 76, 316 (1954)
- 11) Gyllenberg, H., Rossander, M., Roine, P.,
J.Gen.Microbiol. 9, 190 (1953)
- 12) Gyllenberg, H., Rossander, M., Roine, P.,
Acta Chem.Scand. 7, 694 (1953)
- 13) Roine, P., Gyllenberg, H., Sarakivi, V.,
Acta Chem.Scand. 8, 161 (1954)
- 14) Sprince, H., Woolley, D.W., J.Exp.Med. 80, 213 (1944)
- 15) Stokes, J.L., Koditschek, L.K., Rickes, E.L., Wood, T.R.,
J.Biol.Chem. 178, 93 (1949)
- 16) Woolley, D.W., J.Exp.Med. 73, 487 (1941)
- 17) Wright, L.D., Fruton, J.S., Valentik, K.A., Skeggs, H.R.,
Proc.Soc.Exptl.Biol.Med. 74, 687 (1950)
- 18) Agren, G., Acta Chem.Scand. 1, 69 (1947)
- 19) Bourgeat, J., Compt.rend., 226, 837 (1948)
- 20) Karrer, W., Pfaltz, H., Helv.Chim.Acta 34, 2225 (1951)
- 21) Woolley, D.W., J.Biol.Chem. 159, 753 (1945)
- 22) Woolley, D.W., J.Biol.Chem. 162, 383 (1946)

- 23) Brand, E., Bosshardt, D.K., Abstracts Am.Chem.Soc.
114th Meeting 38 c (Washington D.C., August 1948)
- 24) Frost, D.V., Sandy H.R., J.Biol.Chem. 175, 635 (1948)
- 25) Kollath, W., Ztschr.f.Naturforschung, 5b, 47 (1950)
- 26) Maddy, K.H., Elvehjem, C.A., J.Biol.Chem. 177, 577 (1949)
- 27) Ramasarma, C.B., Henderson, L.M., Elvehjem C.A.,
J.Nutr. 38, 177 (1949)
- 28) Gould, G., J.Biol.Chem. 153, 143 (1944)
- 29) Riesen, W.H., Spengler, H.H., Robblee, H.R., Hankes, L.V.,
Elvehjem, C.A., J.Biol.Chem. 171, 731 (1947)
- 30) Scott, M.L., Norris, L.C., Heuser, G.F.,
J.Biol.Chem. 166, 483 (1946)
- 31) Slade, H.D., Knox, G.A., Slamp, W.C., J.Bact. 62, 669 (1951)
- 32) Nurmikko, V., Virtanen, A.I., Acta Chem.Scand. 5, 97 (1951)
- 33) Virtanen, A.I., Nurmikko, A., Acta Chem.Scand. 5, 681 (1951)
- 34) Kihara, H., Snell, E.E., J.Biol.Chem. 197, 791 (1952)
- 35) Kihara, H., Klatt, O.A., Snell, E.E., J.Biol.Chem. 197, 801
(1952)
- 36) Peters, V.J., Prescott, J.M., Snell, E.E.,
J.Biol.Chem. 202, 521 (1952)
- 37) Prescott, J.M., Peters, V.J., Snell, E.E.,
J.Biol.Chem. 202, 533 (1952)
- 38) Simmonds, S., Fruton, J.S., Science 111, 329 (1950)
- 39) Stone, D., Hoberman, D.H., J.Biol.Chem. 202, 203 (1952)
- 40) Stone, D., J.Biol.Chem. 202, 821 (1952)
- 41) Diese Testmethode wurde im mikrobiologischen Labor der
Universität Basel unter Leitung von Herrn Dr. V. Kocher
ausgearbeitet. Ueber die Einzelheiten des Milieus zur
Züchtung siehe ungekürzte Fassung der Diss. R. Studer,
Basel 1955

- 42) Mauron, J., Wenner, V., Egli, R., Journées médicales Nestlé, Colloque sur les acides aminés 1954, 58.
Siehe auch ungekürzte Fassung der Diss. R. Studer, Basel 1955.
Der Testorganismus wurde uns in freundlicher Weise von der Firma Nestlé SA, Vevey zur Verfügung gestellt.
- 43) Vertretung Schweiz: Adelpha AG, Zürich
- 44) Diss. A. Vetterli, Basel 1955
- 45) Ausführung: Dr. E. Wiedemann, Sandoz AG, Basel
- 46) B-W 100, Firma Theodor Christ, Basel.
-



CURRICULUM VITAE

Am 16. September 1927 wurde ich, Rolf Studer, als Sohn des Otto und der Lisa geb. Mattenberger in Aarau geboren. Dort besuchte ich während 5 Jahren die Primarschule und trat nach unserer Umsiedlung nach Basel in das Realgymnasium ein. Im Frühjahr 1947 bestand ich die Maturitätsprüfung, wendete mich an der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel dem Chemiestudium zu und wählte physikalische Chemie, Mineralogie und Mathematik als Nebenfächer.

Bei den folgenden Dozenten habe ich Vorlesungen und Praktika besucht: W. Becker, M. Brenner, H. Dahn, H. Erlenmeyer, M. Fierz, C. Grob, F. Grün, P. Huber, H. Kuhn, W. Kuhn, E. Miescher, H. Mohler, A. Ostrowsky, T. Reichstein, M. Reinhard, E. Schlittler, A. Speiser, R. Wizinger.

Die vorliegende Dissertation entstand unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. M. Brenner an der organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel in der Zeit vom Winter 1951 bis Herbst 1954.
